



TITLE:

Id genes are required for morphogenesis and cellular patterning in the developing mammalian cochlea( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Sakamoto, Susumu

---

CITATION:

Sakamoto, Susumu. Id genes are required for morphogenesis and cellular patterning in the developing mammalian cochlea. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-05-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22637>

RIGHT:

許諾条件により本文は2021-03-01に公開; CC-BY-NC-ND licenseあり。  
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.12.006>

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	坂本 進
論文題目	<i>Id</i> genes are required for morphogenesis and cellular patterning in the developing mammalian cochlea (Id 遺伝子群は哺乳類蝸牛発生過程の形態形成と細胞配列に必要である)		
(論文内容の要旨)			
<p>哺乳類の蝸牛の感覚上皮（コルチ器）は、1 列の内有毛細胞と 3 列の外有毛細胞とそれを取り囲む支持細胞が整然と配列した器官である。有毛細胞は、音波を電気信号に変換し、中枢神経へ情報を伝達する感覚細胞であるが、難聴の殆どの原因は有毛細胞の脱落であるとされる。失われた有毛細胞は再生しないため難聴の治療は困難であり、有毛細胞再生に向けて新しい治療法が待望されている。そのためには、いかにして有毛細胞を含む蝸牛上皮が出来上がるかという発生過程を知ることが不可欠である。</p> <p>他の臓器・器官と同様、蝸牛感覚上皮の形態形成と細胞分化には多くの遺伝子が関与すると考えられているが、Inhibitors of differentiation and DNA binding (Id)遺伝子群は、内耳においても重要な役割を担っていると推察されてきた。Id は哺乳類では Id1 から Id4 まで 4 種類存在することが知られており、塩基性ヘリックスループヘリックス (bHLH) 型転写因子のアンタゴニストとして働き、Bmp 経路の下流因子として知られている。蝸牛発生過程でも Id 遺伝子は Bmp 経路の下流であることは示唆されており、また、有毛細胞への分化に必要な bHLH 転写因子である Atoh1 のアンタゴニストである可能性も示唆されている。このように Id 遺伝子群は哺乳類蝸牛発生に重要である可能性があるものの、遺伝子欠失による機能解析はこれまで不十分であった。本研究では Id 遺伝子群に注目し、その蝸牛発生過程における機能を知ることが目標に、研究をおこなった。</p> <p>Id1 から Id3 は E11.5 から蝸牛感覚上皮予定領域を含む蝸牛底部に発現しており、蝸牛外側で発現が強く、内側で発現が弱くなる発現様式を呈した。Bmp4 は蝸牛感覚上皮外側に発現していることより、Id1 から Id3 は Bmp 経路の下流因子であることが示唆された。</p> <p>Id1 から Id3 の発現様式が類似していること、Id 単独欠損マウスでは表現型が表れにくいことより、Id 遺伝子は相互に機能を補完し合っていることが予想されたため、Id1-/-、Id2-/-、Id3f/f マウスと Emx2Cre マウスを掛け合わせることで様々な Id コンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作成した。E18.5 の IdcKO マウスは Id 遺伝子の欠損が多くなるほど蝸牛長が短くなり、Id トリプルノックアウトマウス (IdTKO) の蝸牛長は野生型に比べ 8 2 % 短かった。また、IdTKO の蝸牛は単一の太さではなく拡張している部分やくびれている部分が存在し、形態学的にも異常を示した。</p> <p>E17.5、E18.5 の有毛細胞、支持細胞の配列を調べた。IdTKO では野生型に比べ、単位長さ当たりの内有毛細胞が増加し、外有毛細胞と総有毛細胞数は減少していた。また、IdTKO では、感覚上皮予定領域の外側の非感覚上皮のマーカーである Bmp4 や Lmo3 の発現が欠損しており、Id 遺伝子群が感覚上皮を含めた蝸牛外側の発生に必要であることがわかった。</p> <p>Bmp 経路阻害薬である LDN193189 を使用した、蝸牛培養実験では Bmp 経路阻害薬を含む培地で培養した蝸牛は外有毛細胞数が減少し、qPCR における実験で Id 遺伝子群や Bmp4 の発現も低下しており、Bmp 経路は Id 遺伝子群と同様に Bmp4 の発現や外有毛細胞の発生に必要であることがわかった。</p> <p>以上より、Id 遺伝子群は哺乳類蝸牛の形態形成に必要であり、Bmp 経路の因子として蝸牛外側の発生と外有毛細胞配列に必要な因子であることが明らかになった。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>難聴の殆どの原因は有毛細胞の脱落であるとされ、失われた有毛細胞は再生しない。有毛細胞を再生させる治療法を開発するうえで、有毛細胞を含む蝸牛上皮の発生過程を知ることが不可欠である。</p> <p>Inhibitors of differentiation and DNA binding (Id)遺伝子群は、内耳において重要な役割を担っていると推察されてきたが、Id 遺伝子群はお互いに機能を補完するため、多重遺伝子欠損が必要となり機能解析はこれまで不十分であった。本研究では Id 多重ノックアウトマウスを解析することで Id 遺伝子群の蝸牛発生過程における機能を解析した。</p> <p>Id トリプルノックアウトマウス (IdTKO) の蝸牛長は野生型に比べ短く、形態学的にも異常を示した。IdTKO は野生型に比べ、単位長さ当たりの外有毛細胞と総有毛細胞数は減少した。また、IdTKO では、感覚上皮予定領域の外側の非感覚上皮のマーカーの発現が欠損しており、Id 遺伝子群が感覚上皮を含めた蝸牛外側の発生に必要であることがわかった。Bmp 経路阻害薬を使用した蝸牛培養の実験では、Id 遺伝子群や Bmp4 の発現は Bmp 経路に依存し、また Bmp 経路は外有毛細胞の発生に必要であることがわかった。</p> <p>以上より、Id 遺伝子群は哺乳類蝸牛の形態形成に必要であり、Bmp 経路の因子として Bmp4 発現の維持に関与し、蝸牛外側と外有毛細胞の形成に必要な因子であることが明らかになった。</p> <p>以上の研究は蝸牛発生の解明に貢献し、有毛細胞再生への治療法の確立に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 3 月 1 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降			